

Phosphatase acide et inflammation gingivale

Etude histologique quantitative

THÈSE

PRÉSENTÉE À LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE L'UNIVERSITÉ DE GENÈVE
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE DENTAIRE

PAR

ALAIN CORNAZ

Faug (Vaud)

THÈSE N° 309

LAUSANNE
IMPRIMERIES RÉUNIES S.A.

1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545917_0015

Phosphatase acide et inflammation gingivale

Etude histologique quantitative

THÈSE

PRÉSENTÉE À LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE L'UNIVERSITÉ DE GENÈVE
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE DENTAIRE

PAR

ALAIN CORNAZ

Faug (Vaud)

THÈSE N° 309

LAUSANNE
IMPRIMERIES RÉUNIES S.A.

1974

La Faculté de Médecine, sur le préavis de Monsieur le Professeur Giorgio Cimasoni, autorise l'impression de la présente thèse, sans prétendre par là émettre d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 4 février 1974

Le doyen:

William Geisendorf

Thèse N° 309.



Qu'il nous soit permis ici d'adresser au Professeur G. Cimasoni, sous la direction de qui notre thèse a été entreprise, un hommage de vive gratitude pour ses conseils et la bienveillance avec laquelle il nous a guidés dans l'élaboration de ce travail.

Nos sincères remerciements vont également :

- au Dr. A. Pataki et à la maison Sandoz S.A. à Bâle pour l'extrême obligeance qu'ils nous ont témoignée en mettant à notre disposition leur microdensitomètre.
- à Mademoiselle E. Andersen, laborantine, qui s'est occupée avec diligence de la technique histochimique.
- à Mademoiselle A.-M. Itin, technicienne en radiologie à l'Ecole de médecine dentaire.
- à Monsieur J. Métral, dessinateur à l'Ecole de médecine dentaire.

A MON PERE, A MA MERE, en témoignage de profonde reconnaissance

A MES PARENTS

A MA FIANCEE

A MES AMIS

1. INTRODUCTION

La région parodontale marginale comprend l'ensemble des tissus qui entourent le sillon gingivo-dentaire. La gencive marginale forme un manchon autour du collet de la dent et représente la paroi tissulaire de ce sillon. A l'examen microscopique, la gencive marginale se compose de tissu conjonctif recouvert sur sa face externe d'un épithélium pluristratifié kératinisé et du côté du sillon d'une couche d'épithélium plus mince et non kératinisé. A la base de ce sillon, la gencive se lie à la dent par l'intermédiaire de l'attache épithéliale (10, 15, 18). L'épithélium du sillon se renouvelle à un rythme encore plus élevé que celui du reste de l'épithélium buccal (4).

L'inflammation de la gencive est essentiellement due à la présence de bactéries colonisées et formant ce que l'on appelle une plaque bactérienne à la surface de la dent (27). Lors de cette inflammation, un exsudat appelé fluide gingival peut être mis en évidence au niveau du sillon gingivo-dentaire. Sa quantité augmente en fonction du degré de gingivite (7, 8, 10, 12, 24, 37). Le fluide gingival contient des leucocytes, des cellules épithéliales et des bactéries (10).

Il est bien connu que les leucocytes contribuent à la défense de l'individu contre les attaques microbiennes par leur propriété d'endocytose. En effet, ces cellules ont la faculté d'inclure dans leur cytoplasme les matériaux étrangers et de les "digérer" à l'aide de leurs lysosomes. Par définition, le lysosome est considéré comme un organite intracellulaire limité par une membrane et contenant plusieurs enzymes hydrolytiques (11). Ces enzymes, synthétisés au niveau des ribosomes du réticulum endoplasmique peuvent, après avoir été libérés des lysosomes où ils ont été stockés, détruire soit les matériaux étrangers qui sont entrés dans la cellule par endocytose, soit les constituants principaux de la cellule ou des tissus environnants. Le lysosome a donc vraisemblablement deux rôles : la digestion intracellulaire après endocytose et l'autolyse tissulaire (1). Grâce à la mise en évidence d'un enzyme lysosomal, la phosphatase acide, par une réaction spécifique, certains auteurs (19, 31) ont décrit la présence de lysosomes également au niveau de l'épithélium buccal : dans la couche basale de l'épithélium, le produit de la réaction de la mise en évidence de la phosphatase acide se trouve dans les vésicules de l'appareil de Golgi, près du noyau ou proche de celui-ci; dans la couche moyenne, spinocellulaire, le produit de réaction est visible du niveau des lysosomes dans le cytoplasme; dans les couches

Cette recherche a été possible grâce à l'aide financière du Fonds national suisse de la recherche scientifique (Requête N° 3.663.71).

Le présent travail a été accepté pour publication, sous forme condensée, dans la revue "Experientia".

superficielles, granuleuse et cornée, le nombre des lysosomes diminue par rapport aux couches basale et spinocellulaire. Il y a eu en effet libération de matériel lysosomal dans l'espace intercellulaire. L'activité enzymatique extracellulaire due à cette libération pourrait être en relation avec les phénomènes de kératinisation et de desquamation. Il est possible que lorsque ces processus vont se produire, les enzymes lysosomaux passent d'une forme inactive initiale à une forme active (19). Par la libération du contenu de leurs lysosomes dans l'espace intercellulaire, les cellules épithéliales sont capables de modifier la composition du fluide gingival. En effet, on a trouvé au niveau de cet exsudat des quantités importantes d'enzymes, dont en particulier la phosphatase acide, qui proviennent soit des leucocytes, soit des cellules épithéliales desquamées, soit des bactéries (21, 32, 33). Il a été démontré pour la bêta-glucuronidase (3) et pour la cathepsine D (20, 36) des corrélations positives entre leurs concentrations dans le fluide gingival et la gravité de la destruction parodontale. Ces corrélations ont conduit à l'hypothèse d'un rôle possible des enzymes lysosomaux dans la pathogénie de la parodontite. En effet, les dommages subis par les tissus parodontaux peuvent être causés par la présence de produits bactériens (toxines ou enzymes) ou par les enzymes lysosomaux libérés in situ par les leucocytes et les cellules épithéliales desquamées (34).

Dans le présent travail, il nous a semblé intéressant d'approfondir cette hypothèse en étudiant l'activité de la phosphatase acide dans les cellules épithéliales desquamées au niveau du sillon gingivo-dentaire en relation avec la gravité de l'inflammation parodontale, en utilisant une méthode microdensitométrique (9) et en employant la phosphatase acide comme marqueur lysosomal.

Il a été établi dans cette étude que l'activité phosphatasique à l'intérieur des lysosomes des cellules épithéliales desquamées diminue lorsque l'inflammation parodontale s'intensifie.

2. MATERIEL ET METHODES

15 patients, âgés de 18 à 53 ans et présentant des degrés variables d'inflammation gingivale, ont collaboré à l'étude présente. Des frot-tis du produit de raclage du sillon gingivo-dentaire au niveau des incisives et canines supérieures ont été préparés pour l'étude histo-chimique. Pour chaque patient, 5 mesures cliniques ont été relevées au niveau de cette même zone incisive et canine supérieures et une radio-graphie du type orthogonal a été réalisée.

2.1. Mesures cliniques permettant l'évaluation de l'état parodontal.

2.1.1. Fluide gingival.

Pour la collection de l'exsudat inflammatoire gingival, la méthode de LOE et HOLM-PEDERSEN (23) a été employée, suivant la modification proposée et standardisée par VALAZZA, MATTER, OGILVIE et CIMASONI (37) : des languettes de papier-filtre (Schleicher et Schnell N° 595) de 1,5 mm de large et 7 mm de long ont été marquées de millimètre en millimètre au moyen d'une roue dentée. Ces languettes de papier ont été pesées avant et après la collection de fluide, de la façon suivante : 4 languettes ont été introduites dans une micro-éprouvette de plastique (Beckman), celle-ci a été fermée hermétiquement au moyen de son bouchon et pesée au 1/100ème de mg sur une balance Mettler H20 T. La dent choisie pour la collection a été isolée de la salive par des cotons, puis délicatement séchée. Les 4 languettes de papier-filtre contenues dans une micro-éprouvette ont été alors sorties et aussitôt insérées une à une autour de la dent au niveau de chacune de ses faces, mésiale, distale, vestibulaire et palatine, ceci en prenant soin qu'une seule division de 1 mm pénètre dans le sillon gingivo-dentaire. Le temps de collection a été chronométré pour chaque dent. Les 4 languettes ont été remises dans leur éprouvette, celle-ci étant aussitôt rebouchée hermétiquement pour prévenir toute évaporation. Une nouvelle pesée au 1/100ème de mg a ainsi donné, avec la différence de la première pesée, la quantité de fluide gingival collecté en un temps donné. Tout papier-filtre contaminé par du sang a été écarté. Une moyenne des quantités obtenues a été calculée pour chaque patient.

2.1.2. Indice d'inflammation gingivale.

Le degré d'inflammation gingivale a été évalué dans la région incisive et canine supérieure selon la méthode de LOE et SILNESS (22) qui comprend les quatre stades suivants :

- 0 = gencive normale
- 1 = légère inflammation - léger changement de couleur, léger oedème.
Pas de saignement au sondage.
- 2 = inflammation moyenne - rougeur, oedème, surface brillante.
Saignement au sondage.
- 3 = inflammation marquée - rougeur et oedème important. Ulcération.
Tendance au saignement spontané.

2.1.3. Profondeur des poches.

La profondeur des poches parodontales a été mesurée au moyen d'une sonde parodontale fine et graduée, aux mêmes endroits de prélèvement du fluide. Les 4 mesures ainsi notées, autour de chaque dent, ont permis le calcul d'une moyenne exprimée en mm pour chaque patient. Il faut noter que l'indice d'inflammation gingivale et la profondeur des poches ont été relevés seulement après le prélèvement du fluide gingival. En effet, la mesure de ces deux paramètres peut causer un saignement et une contamination du fluide prélevé ultérieurement.

2.1.4. Résorption osseuse.

Le degré de résorption d'os parodontal a été déterminé sur les radiographies par la technique de MARSHALL-DAY et SHOURIE (25) telle qu'elle a été décrite en détail par SCHEL, WAERHAUG, LOVDAL et ARNO (30). Cette méthode est basée sur l'emploi d'une règle spéciale dessinée sur papier transparent qui, posée sur la radiographie, permet de diviser en 10 parties égales la longueur d'une racine, entre l'apex et la jonction ciment-émail. La perte osseuse, ainsi vue au travers de cette règle transparente, est rapportée au pourcent de la longueur de la racine. Cette mesure a été effectuée sur les faces mésiale et distale des canines et incisives supérieures, pour autant qu'aucune superposition d'une autre dent ou la présence d'une obturation n'ait empêché la lecture. Une valeur moyenne a été calculée pour chaque patient.

2.2. Analyses enzymatiques au niveau des cellules épithéliales.

2.2.1. Méthode de détermination de l'activité de la phosphatase acide.

Des prélèvements de cellules ont été effectués au niveau de la région du sillon gingivo-dentaire au moyen d'un fil de platine de 0,5 à 1 mm de diamètre à extrémité recourbée en forme de boucle, suivant la technique décrite par LANGE et SCHROEDER (21). Ces prélèvements, essentiellement formés de cellules épithéliales et de polynucléaires (21) ont été immédiatement introduits dans un microtube de plastique (Beckman) contenant le milieu pour la mise en évidence de la phosphatase acide (26). La composition de cette solution était la suivante : dans 20 ml de tampon acétate 0,1 M au pH de 5,0, ont été dissous 20 mg de alpha-naphtylphosphate de sodium (Light and Co Ltd, Angleterre) et 20 mg de diazotate de o-amino azotoluène (Fast Garnet GBC salt, George T. Gurr Ltd, London). Cette solution a été filtrée et, après filtration, 8 mg d'une préparation de polypeptides de collagène (Sigma chemical Company, USA) ont été ajoutés au filtrat dans le but de maintenir les cellules intactes.

Après 30 minutes d'incubation à 37° C, les tubes ont été centrifugés et le liquide surnageant enlevé. Après un lavage avec une solution de NaCl isotonique, les frottis ont été effectués avec le résidu. Pour ce faire, les cellules composant le résidu ont été aspirées avec une pipette Pasteur amincie à la flamme et étendues sur une lame de verre. Une fois sèches les lames ont été plongées dans une solution neutre de formaldéhyde à 40 % pour que les cellules soient fixées. Les lames ont été ensuite rincées dans une solution de NaCl isotonique. Les frottis ont alors été couverts par une lamelle avec une goutte de gélatine chauffée.

Pour chaque patient, 6 prélèvements séparés ont été effectués, chacun étant traité dans un tube individuel, ce qui a permis la préparation de 6 frottis pour chaque cas. Chaque frottis a été examiné au microscope et 8 à 10 cellules épithéliales, montrant un degré minimum de dégénérescence, ont été choisies pour la mesure microphotométrique d'absorption.

Cette absorption a été mesurée en unités arbitraires à trois places différentes à l'intérieur de la même cellule, une mesure prise en dehors de la cellule servant de "blanc" (fig. 1). Toutes les lectures ont été effectuées à double et une moyenne a été chaque fois calculée. Après soustraction de la valeur du "blanc", trois mensurations finales étaient donc à disposition pour chaque cellule et leur moyenne a été utilisée comme mesure d'absorption relative pour une cellule donnée. Il a été fait de même pour chacune des 8 à 10 cellules choisies dans les 6 prélèvements si bien que pour chaque patient, une moyenne d'absorption relative a été calculée et celle-ci représentait finalement la moyenne de 300 à 360 lectures. Les mesures d'absorption ont été effectuées au moyen d'un microdensitomètre de BARR & STROUD type G N 2, à une longueur d'onde de $550 \text{ \AA}$, avec un objectif à fort agrandissement et un champ standard de 60μ de diamètre.

MICRODENSITOMETRIE

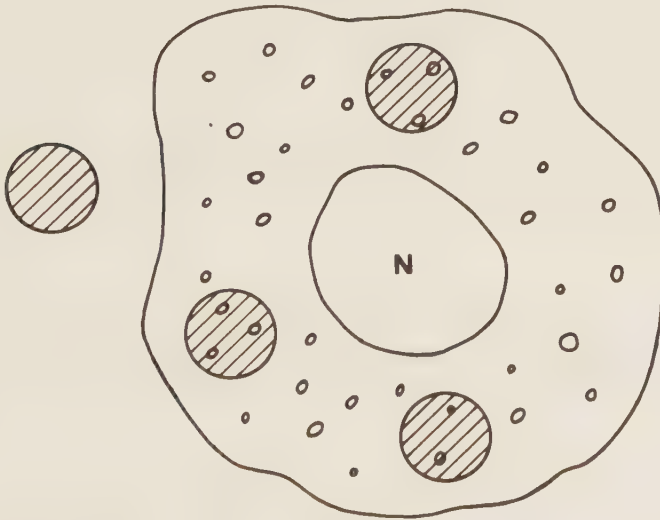
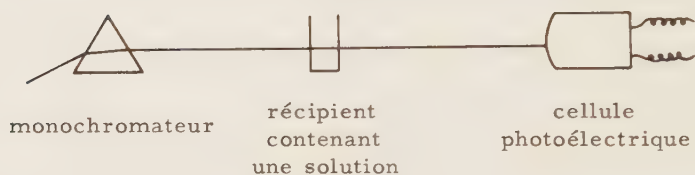


Fig. 1 : Situation des trois champs de lecture dans une cellule examinée par un microdensitomètre et position du blanc en dehors de celle-ci.

Le principe de la microdensitométrie est schématisé dans la figure 2, en même temps que celui de la spectrophotométrie classique. En densitométrie, le godet en verre contenant la solution colorée est remplacé par une cellule biologique. Celle-ci est agrandie par un microscope et son image est projetée sur une cellule photoélectrique.

SPECTROPHOTOMETRIE



MICRODENSITOMETRIE

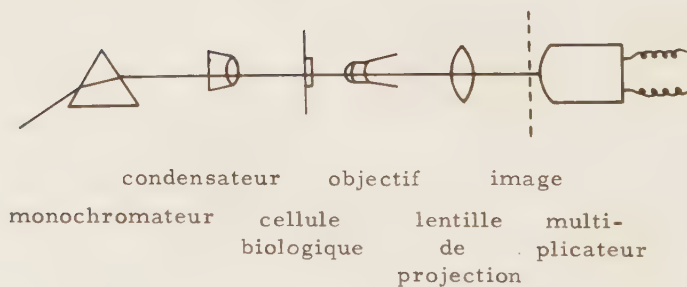


Fig. 2 : Comparaison schématique entre le spectrophotomètre et le microdensitomètre utilisé pour la mesure de l'activité enzymatique.

3. RESULTATS

Une analyse des corrélations entre les différentes mesures cliniques et radiologiques permettant l'évaluation de l'état parodontal a été effectuée dans une première étape de cette étude. Dans une deuxième étape, on a examiné la relation entre l'état parodontal et les mesures d'absorption relative exprimant l'activité de la phosphatase acide au niveau des cellules épithéliales des frottis.

3.1. Etude de l'état parodontal.

Le graphique No 1 représente la corrélation entre l'indice d'inflammation gingivale et le débit de fluide, l'axe des ordonnées indiquant la quantité de fluide gingival récolté en mg pendant 5 minutes, et l'axe des abscisses indiquant la valeur de l'indice d'inflammation gingivale. Le calcul statistique de la corrélation entre ces deux paramètres a permis d'établir, pour les 15 patients, un coefficient de corrélation $r = + 0,68$ avec une probabilité, p , inférieure à 0,01. Il y a donc corrélation positive et statistiquement significative entre ces deux paramètres.

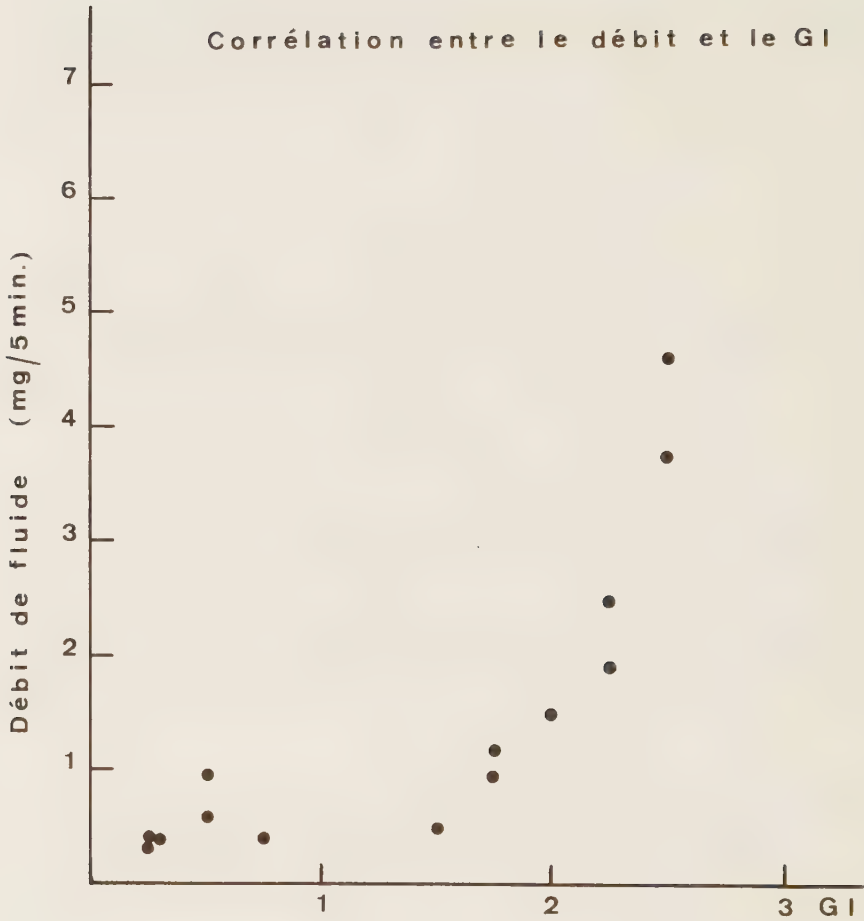
La variation de la profondeur des poches en fonction de l'indice d'inflammation gingivale est démontrée sur le graphique No 2 dont l'axe des ordonnées indique la profondeur des poches et l'axe des abscisses l'indice d'inflammation gingivale. Il y a corrélation positive ($r = + 0,745$) et statistiquement significative ($p < 0,001$) entre ces deux paramètres.

Le graphique No 3 montre la corrélation entre la profondeur des poches et le débit de fluide gingival. L'axe des ordonnées indique la profondeur moyenne des poches et l'axe des abscisses indique la quantité de fluide gingival recueillie en 5 minutes. Cette corrélation n'est pas statistiquement valable ($r = + 0,272$ et $p > 0,1$).

Le graphique No 4 illustre le rapport établi entre la perte osseuse et l'indice d'inflammation gingivale. En ordonnée figure la perte osseuse exprimée en pourcent de la longueur de la racine et en abscisse figure la valeur de l'indice d'inflammation gingivale. La corrélation entre ces deux paramètres est positive ($r = + 0,673$) et statistiquement significative ($0,001 < p < 0,01$).

Comme il fallait s'y attendre, il existe une corrélation positive entre les mesures de la profondeur des poches et celles de la perte d'os parodontal relevées à la radiographie. C'est ce qui apparaît sur le graphique No 5 où sont notées sur l'axe des ordonnées les valeurs de la perte osseuse exprimées en pourcent de la longueur de la racine et sur l'axe des abscisses les mesures de profondeur des poches. Le calcul statistique a permis d'établir qu'il y a donc bien entre ces deux paramètres un coefficient de corrélation positif ($r = + 0,84$) avec une probabilité p inférieure à 1 %.

En considérant les cinq premiers graphiques, il semble donc bien que plus une gencive est enflammée, plus la quantité de fluide gingival augmente (graphique No 1) de même que la profondeur des poches (graphique No 2) et la perte osseuse (graphique No 4).

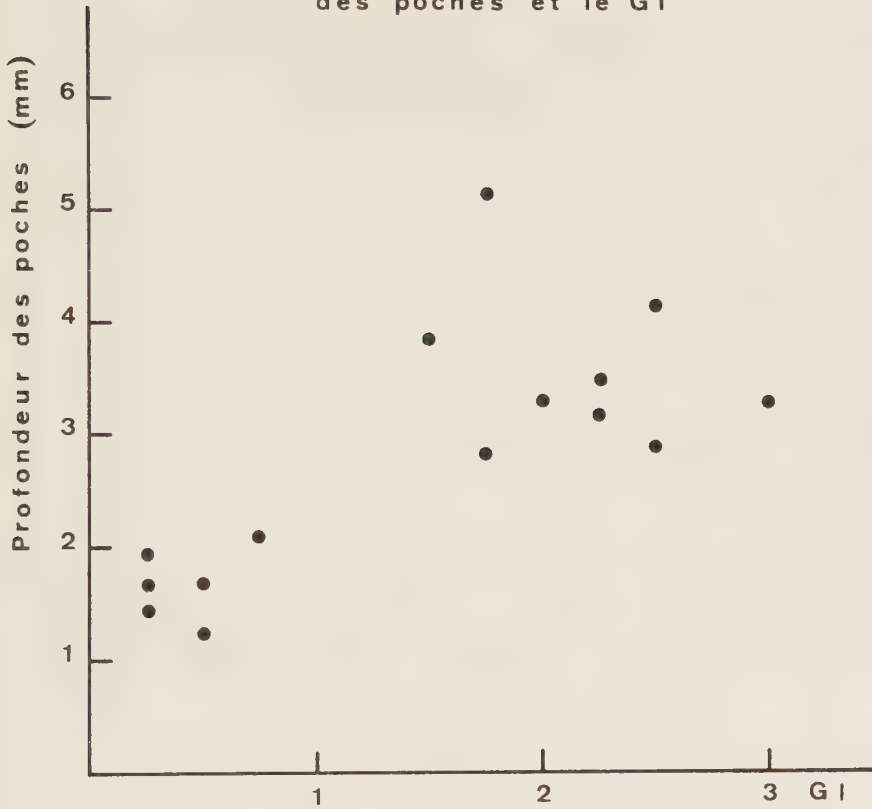


Graphique No 1 Corrélation entre l'indice d'inflammation (GI) et le débit de fluide gingival.

En ordonnée : Débit de fluide gingival exprimé en milligramme / 5 min.

En abscisse : Indice d'inflammation gingivale (GI selon Loe & Silness)

**Corrélation entre la profondeur
des poches et le GI**

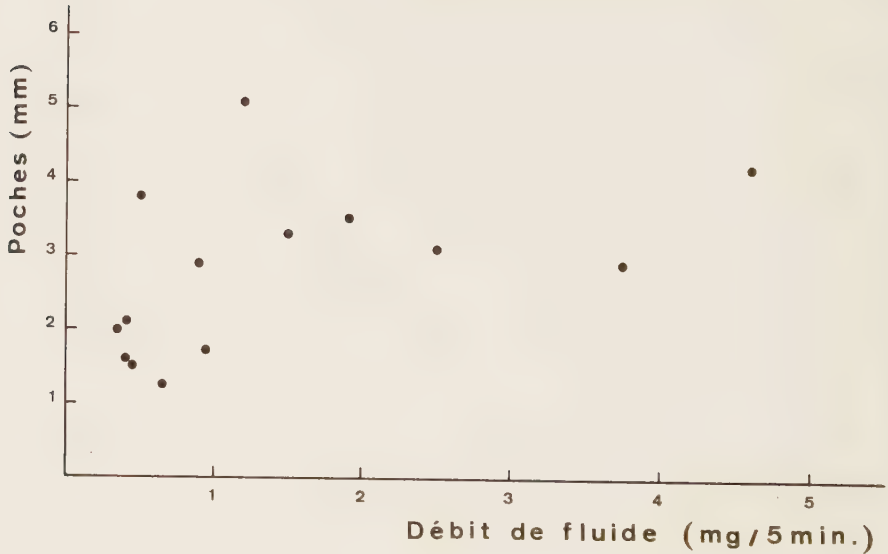


Graphique No 2 Corrélation entre la profondeur des poches et
l'indice d'inflammation gingivale (GI)

En ordonnée : Profondeur des poches en millimètres.

En abscisse : Indice d'inflammation gingivale GI.

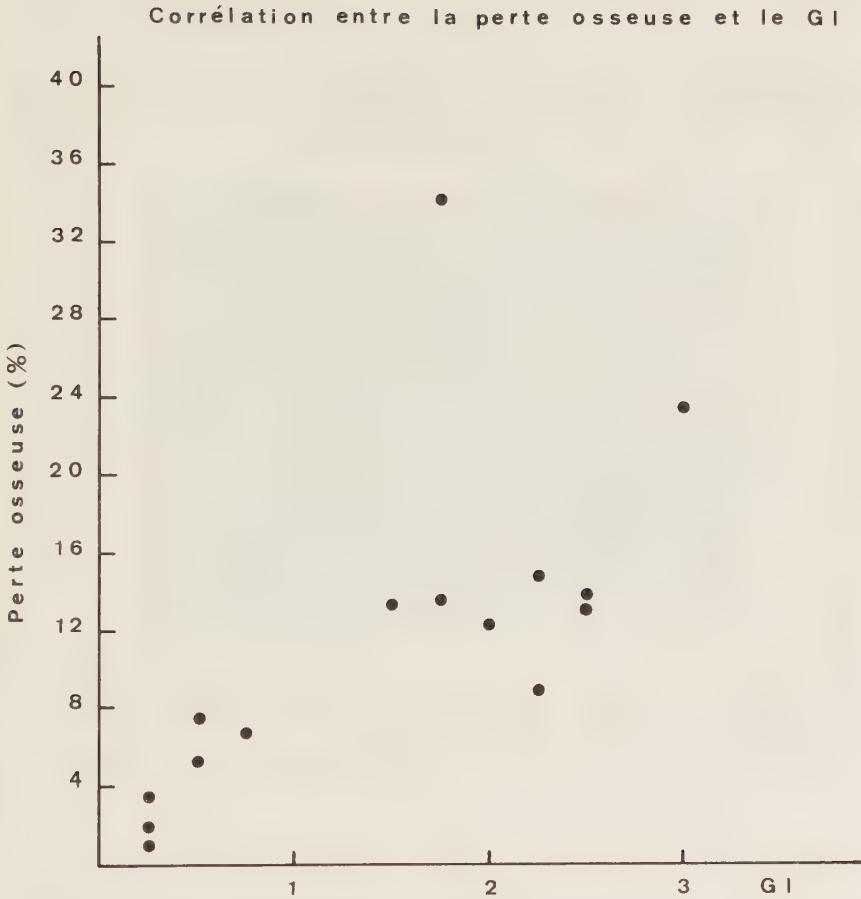
**Corrélation entre la profondeur des poches
et le débit de fluide**



Graphique No 3 Corrélation entre la profondeur des poches et
le débit de fluide gingival.

En ordonnée : Profondeur des poches en millimètres.

En abscisse : Débit de fluide gingival exprimé en milligramme / 5 minutes.

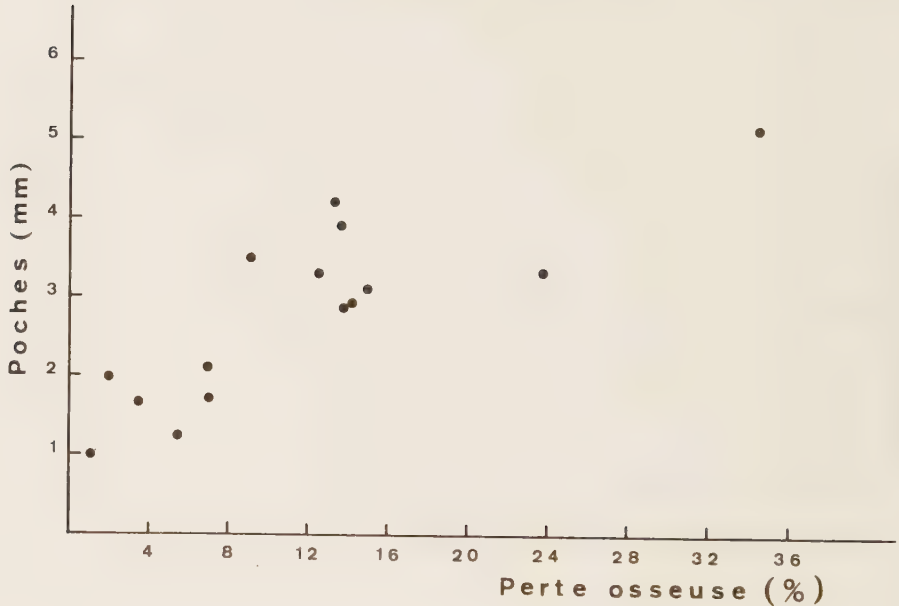


Graphique No 4 Corrélation entre la perte osseuse et l'indice d'inflammation gingivale (GI) .

En ordonnée : Perte osseuse exprimée en pourcent de la longueur de la racine.

En abscisse : Indice d'inflammation gingivale GI.

**Corrélation entre la profondeur des poches
et la perte osseuse**



Graphique No 5 Corrélation entre la perte osseuse et la profondeur
des poches.

En ordonnée : Perte osseuse exprimée en pourcent de la longueur
de la racine.

En abscisse : Profondeur des poches en millimètres.

3.2 Relation entre l'état parodontal et l'activité de la phosphatase acide dans les cellules épithéliales des frottis.

Dans cette deuxième partie de notre étude, les relations entre l'activité de la phosphatase acide et les paramètres utilisés pour l'évaluation de l'état parodontal ont été étudiées.

La figure 3 montre quelques cellules épithéliales, ainsi qu'un groupe de polynucléaires sur un des frottis, après mise en évidence de la phosphatase acide, suivant la technique décrite sous "matériel et méthode".

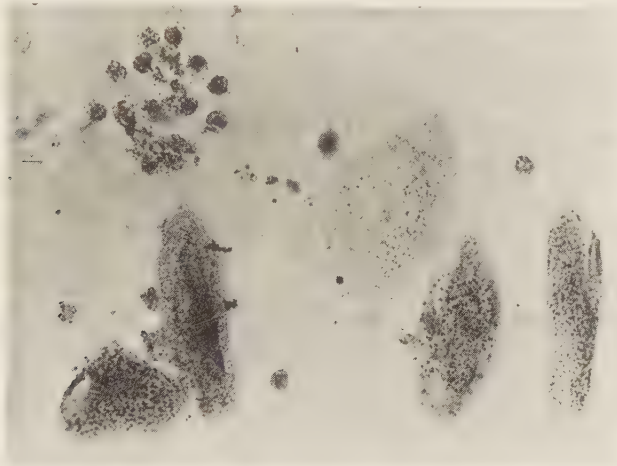
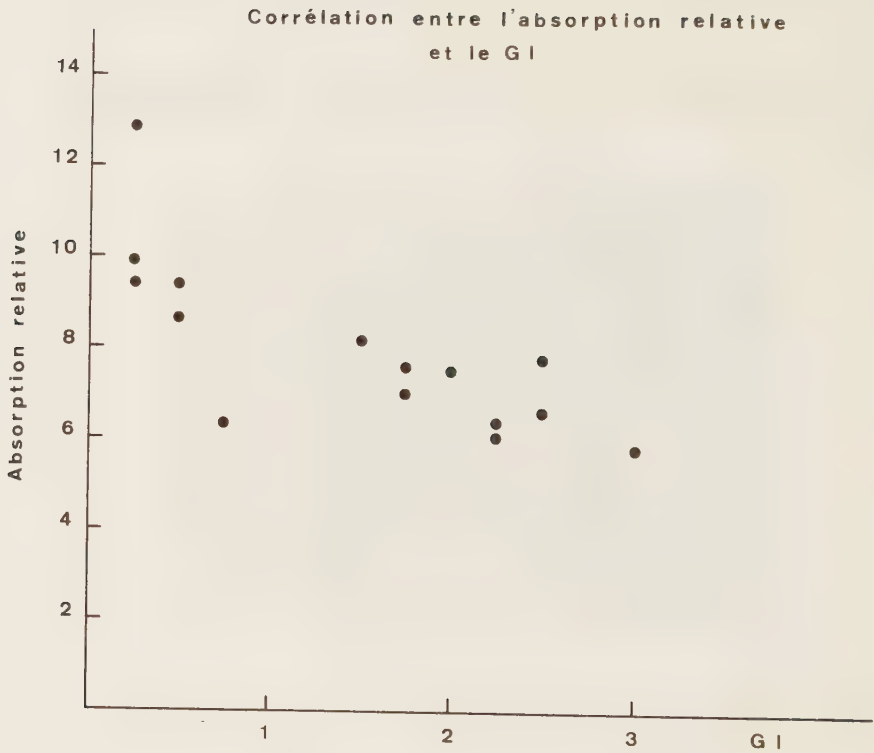


Fig. 3 : Quelques cellules d'un de nos frottis, après mise en évidence de la phosphatase acide. On peut remarquer la présence de quelques cellules épithéliales et de leucocytes. L'activité phosphatasique est presque exclusivement localisée au niveau des lysosomes.

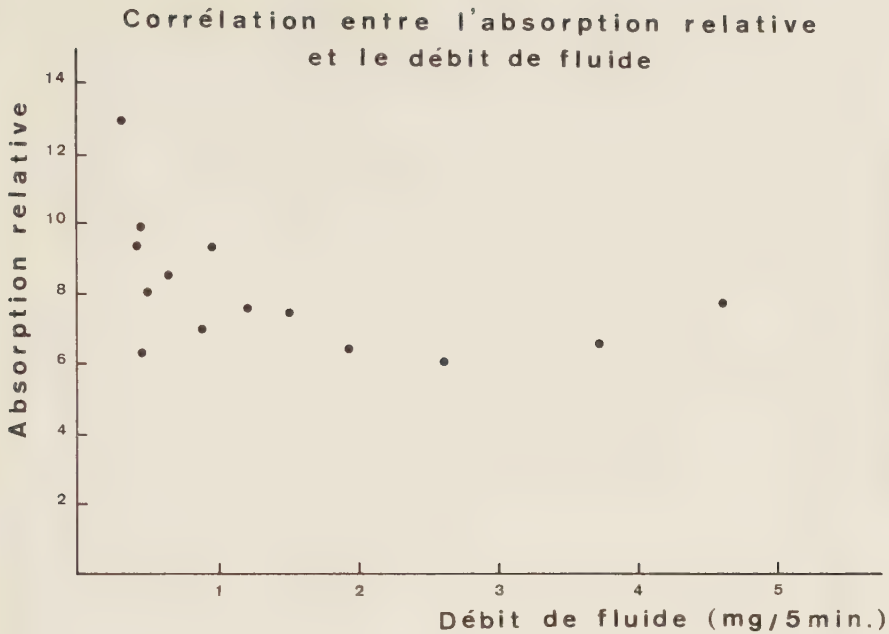
Le graphique No 6 représente la corrélation entre l'indice d'inflammation gingivale et la mesure d'absorption relative exprimant l'activité de la phosphatase acide. L'axe des ordonnées indique l'absorption relative et l'axe des abscisses l'indice d'inflammation gingivale. Le calcul statistique de la corrélation entre ces deux paramètres a permis d'établir pour les 15 patients un coefficient de corrélation $r = -0,68$ avec une probabilité p , inférieure à 0,01 et supérieure à 0,001. Il y a donc corrélation négative et statistiquement significative entre l'activité phosphatasique et l'indice d'inflammation gingivale. Il semble donc que les cellules épithéliales se détachant des gencives enflammées contiennent moins d'activité enzymatique. Ceci est d'ailleurs confirmé par l'étude de la corrélation entre l'activité phosphatasique et le débit du fluide gingival. Le graphique No 7 montre en effet que le coefficient de corrélation entre ces deux paramètres est négatif ($r = -0,45$), quoique statistiquement non significatif ($0,05 < p < 0,1$).



Graphique No 6 Corrélation entre l'indice d'inflammation
gingivale (GI) et l'absorption relative.

En ordonnée : Absorption relative.

En abscisse : Indice d'inflammation gingivale GI.

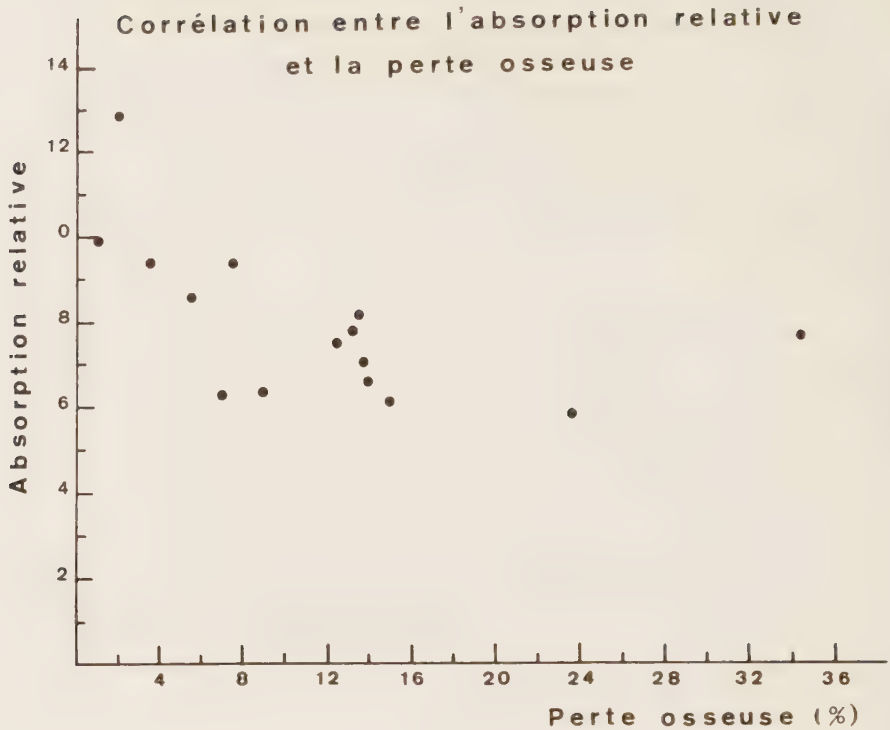


Graphique No 7 Corrélation entre le débit de fluide gingival et
l'absorption relative.

En ordonnée : Absorption relative.

En abscisse : Débit de fluide gingival en milligramme / 5 minutes.

Le graphique No 8 représente la relation établie entre l'absorption relative et la perte osseuse. En ordonnée figure l'absorption relative et en abscisse figure la perte osseuse. Le coefficient de corrélation r entre l'absorption relative et la perte osseuse est négatif ($r = -0,55$) et cette corrélation est statistiquement significative ($0,02 < p < 0,05$).



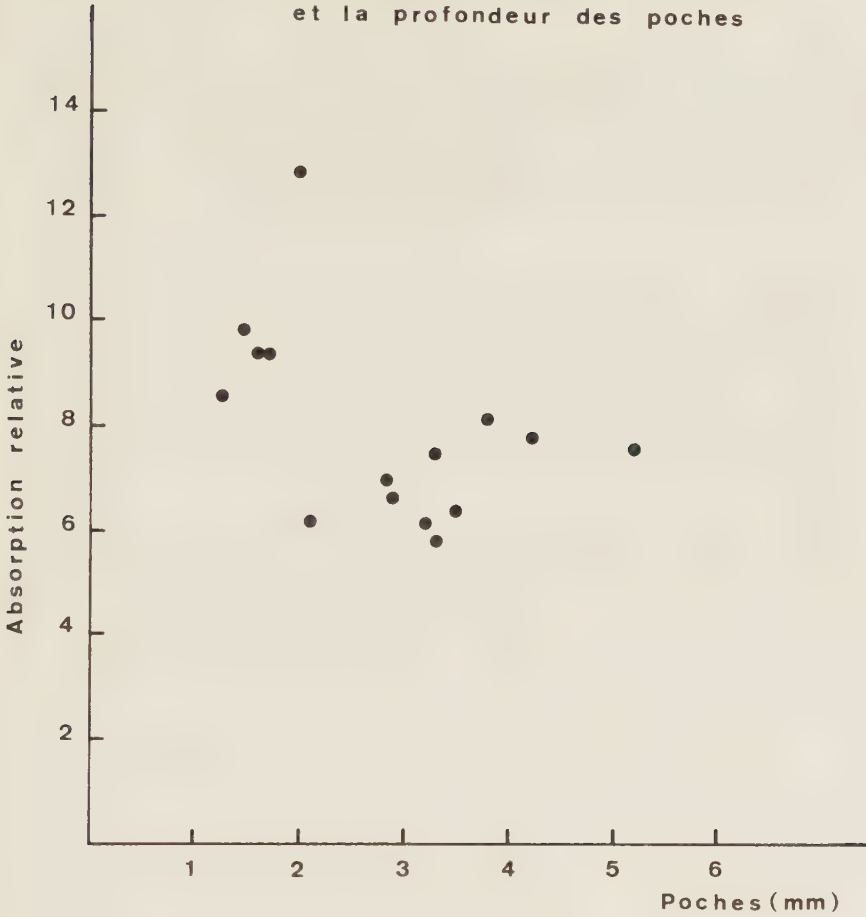
Graphique No 8 Corrélation entre la perte osseuse et l'absorption relative.

En ordonnée : Absorption relative.

En abscisse : Perte osseuse exprimée en pourcent de la longueur de la racine.

L'observation relevée sur le graphique No 8 est confirmée par les résultats présentés sur le graphique No 9 : l'activité enzymatique au niveau des cellules épithéliales tend à diminuer en présence de poches parodontales plus profondes. Sur le graphique No 9, l'absorption figure aux ordonnées, alors que la profondeur moyenne des poches est reportée en abscisses : cette corrélation est négative, quoique statistiquement non significative ($r = -0,48$; $0,5 < p < 0,1$).

**Corrélation entre l'absorption relative
et la profondeur des poches**



Graphique No 9 Corrélation entre la profondeur des poches et
l'absorption relative.

En ordonnée : Absorption relative.

En abscisse : Profondeur des poches exprimées en millimètres.

4. DISCUSSION

Dans cette étude, nous avons cherché à mesurer l'activité de la phosphatase acide dans les cellules épithéliales desquamées en fonction de la gravité des atteintes parodontales. Cela a nécessité dans une première partie une évaluation de l'état parodontal par la mesure de divers paramètres cliniques et radiologiques. Dans une deuxième partie, nous avons étudié l'activité de la phosphatase acide grâce à la microdensitométrie, après mise en évidence de l'enzyme par une technique histochimique.

4.1. Partie clinique.

Pour éviter toute irritation de la gencive marginale, nos prélèvements ont tous été faits en maintenant les papiers-filtres à une profondeur de 1 mm sous le bord marginal de la gencive, selon la technique de VALAZZA (36). Nous avons ensuite employé une méthode de pesée très précise pour exprimer la quantité de fluide collecté en fonction du temps.

En étudiant les graphiques No 1 à 5, nous pouvons faire les quelques remarques suivantes : une corrélation statistiquement significative a été retrouvée entre l'indice d'inflammation gingivale et le débit de fluide. Ceci confirme les résultats d'autres études sur ce sujet (5, 10, 12, 23, 24, 29, 37, 38) et permet d'affirmer que le fluide gingival semble bien être un exsudat inflammatoire dont le débit s'avère être un critère valable de l'état de la gencive.

Nous avons également constaté que la profondeur des poches et la perte osseuse augmentent quand l'indice d'inflammation gingivale s'accroît. Ces résultats confirment ceux de MANN (24) et de BOUTBOUL (6).

Comme dans le travail de VALAZZA et collaborateurs (37), nous n'avons pas trouvé de corrélation statistiquement significative entre la profondeur moyenne des poches et le débit de fluide gingival (graphique No 5). Ce fait est en contradiction avec les résultats de MANN (24). Cependant il faut remarquer que, dans notre étude, nous avons introduit nos languettes de papier-filtre de 1 mm dans le sillon gingivodentaire alors que MANN (24) les a introduites jusqu'au fond de ce sillon. Cet auteur a alors constaté qu'il récoltait sur ses papiers une quantité de fluide qui correspondait à la profondeur des poches, ceci en admettant que le fluide apparaisse sur toute la surface de la paroi interne de la poche. En divisant la surface d'imbibition de ses papiers-filtres par la profondeur d'insertion de ceux-ci, MANN a pu mesurer la quantité de fluide par unité de surface. Or, en mettant ce paramètre en rapport avec la profondeur des poches, MANN a obtenu un coefficient de corrélation peu satisfaisant. Il faut remarquer aussi que la méthode de mesure de profondeur des poches selon GLAVIND et LOE (16) employée dans cette étude ne tient pas compte de la ligne de jonction ciment-émail à laquelle se réfère RAMFJORD (28) pour mesurer l'hypertrophie ou l'atrophie de la gencive marginale.

Il est par conséquent possible que des faux culs-de-sac aient été interprétés comme de réelles poches parodontales.

Finalement, tout comme VALAZZA et collaborateurs (37), nous avons confirmé que deux méthodes, l'une clinique et l'autre radiologique, pour évaluer l'importance de la destruction du parodonte sont bien en rapport entre elles. En effet, nous avons obtenu une corrélation significative entre le pourcentage de destruction osseuse mesuré à la radiographie et la profondeur moyenne des poches mesurée en clinique.

4.2. Partie enzymatique

Plusieurs enzymes ont été étudiées dans le fluide gingival humain par des techniques histochimiques (39). La phosphatase acide est, peut-être, l'enzyme qui a été l'objet des recherches les plus nombreuses. Une plus grande quantité de phosphatase acide a été démontrée dans le fluide gingival comparativement au sérum (32).

Concernant leurs origines, la plupart des enzymes contenus dans le fluide gingival peuvent être produits soit par les bactéries, soit par les cellules de l'hôte. SUEDA et CIMASONI (33) ont étudié l'importance relative de ces deux sources. Pour ce faire, ils ont prélevé du fluide gingival et, par congélations et réchauffements répétés, ils ont libéré l'enzyme et ont procédé à une analyse pour en déterminer la quantité totale. Puis ils ont filtré un deuxième échantillon de fluide à travers un filtre millipore pour en éliminer les cellules épithéliales et sanguines, mais non les bactéries. L'activité phosphatasique au niveau de ce fluide filtré et contenant uniquement les bactéries augmentait significativement après rupture et solubilisation de celles-ci par le même procédé de congélation et dégel, ce qui semble bien prouver qu'une certaine fraction de l'enzyme est d'origine bactérienne.

LANGE et SCHROEDER (21) et FRANK et CIMASONI (14) ont étudié la distribution intracellulaire de la phosphatase acide et ont démontré que cet enzyme était toujours déposé dans les lysosomes à l'intérieur des leucocytes, des macrophages, des monocytes et des cellules épithéliales.

L'intérêt de la méthode utilisée dans notre travail est que nous avons pu étudier l'activité de la phosphatase acide exclusivement dans les cellules épithéliales de l'hôte. La mise en évidence histochimique de la phosphatase acide a été réalisée en incubant les cellules épithéliales dans la solution (voir "Matériel et méthode") contenant le substrat de l'enzyme, un cofacteur et un colorant. L'enzyme agit sur le substrat et libère des produits d'hydrolyse : ceux-ci sont captés par une substance chromogène qui devient colorée par réduction ou couplage et précipite, révélant la présence de l'enzyme. Plus précisément, le substrat, le sodium - alpha - naphthyl phosphate, est hydrolysé par la phosphatase acide et le produit de cette hydrolyse est capté par le "Fast Garnet GBC salt", ce qui donne un précipité coloré qui peut être mesuré par microdensitométrie. Le temps d'incubation de 30 minutes a été choisi après des observations cinétiques préliminaires : une série de frot-

tis ont été incubés pendant 3 à 60 minutes et les lectures microdensitométriques ont montré une variation linéaire de l'absorption relative pendant cette période.

Cette étude a montré (voir graphiques No 6 à 9) que les cellules épithéliales desquamant d'une gencive enflammée ou avec une destruction importante du parodonte possèdent un taux d'activité phosphatasique bas comparé à celui des cellules de gencives moins enflammées.

L'explication la plus probable de ce fait semble être que l'inflammation produit une dégénérescence des constituants cellulaires avec libération du contenu des lysosomes dans le milieu extracellulaire.

Le degré de lyse cellulaire est difficile à évaluer. Comme nous l'avons dit dans le chapitre "Matériel et méthode", nous nous sommes efforcés de prendre les mesures microdensitométriques dans les cellules épithéliales les plus intactes possible. Cependant, en observant attentivement les frottis au microscope, nous avons observé fréquemment une dégénérescence cellulaire dans les cas d'inflammation importante et de destruction du parodonte. Nous pouvons donc avancer l'hypothèse d'une destruction de la membrane lysosomale par les processus inflammatoires.

Alors que chez les patients sains la plupart de l'activité phosphatasique se trouve à l'intérieur des lysosomes, il est possible que, dans le cas d'inflammation, la perméabilité de la membrane lysosomale soit augmentée et qu'il y ait libération de l'enzyme avec une diminution par conséquent de l'activité enzymatique totale dans les lysosomes.

Nos résultats semblent donc confirmer ce que les auteurs qui ont étudié ce domaine appellent "hypothèse lysosomale". Celle-ci peut s'énoncer ainsi : les enzymes lysosomaux libérés par les cellules inflammatoires et épithéliales lors de l'inflammation pourraient être une cause adjuvante dans la destruction des tissus parodontaux. Cette hypothèse a été émise à la suite d'autres observations : BANG, CIMASONI et HELD (3) ont trouvé une corrélation positive et significative entre la concentration en bêta-glucuronidase de l'exsudat gingival et la profondeur des poches parodontales. ISHIKAWA, CIMASONI et AHMAD-ZADEH (20), VALAZZA (36) ont également montré un rapport positif et significatif entre les concentrations de cathepsine D de l'exsudat gingival et la profondeur des poches parodontales. TAICHMAN, FREEDMAN et URIUHARA (34) ont remarqué une augmentation de la quantité d'enzymes lysosomaux dans des lésions inflammatoires produites dans la peau de lapin par l'injection de plaques dentaires contenant des bactéries vivantes ou tuées par la chaleur. Puis, ils ont montré que des injections de matériel semblable dans la peau de lapins leucopéniques ne produisaient pas de réaction inflammatoire visible et une faible modification d'activité enzymatique. ATTSTRÖM, TYNELIUS-BRATTHALL et EGELBERG (2) ont démontré que les leucocytes des sillons gingivo-dentaires peuvent être une importante source d'enzymes dans les poches. Ils ont induit une leucopénie chez des chiens porteurs d'une gingivite chronique par l'injection de sérum antineu-

trophile. Pendant cette leucopénie, le nombre des leucocytes diminue dans les sillons gingivo-dentaires, de même que la quantité de fluide gingival et l'activité enzymatique. Ces diminutions se sont faites parallèlement à la disparition quasi totale des signes d'inflammation gingivale.

THILANDER (35) a essayé de démontrer comment les enzymes libérés par les leucocytes peuvent modifier la structure de l'épithélium des poches et par conséquent changer sa perméabilité. Il a observé, au microscope électronique, sur des biopsies prélevées chez différents patients, après application d'homogénats de leurs propres leucocytes, un élargissement général des espaces intercellulaires de l'épithélium des poches. Selon THILANDER, cette augmentation de l'espace intercellulaire, suffisante pour permettre le passage de substances à travers l'épithélium, serait due à une action enzymatique sur la substance intercellulaire et sur le mécanisme d'adhésion entre les cellules. Il est, en effet, possible que les enzymes libérés par les cellules épithéliales, les leucocytes ou les bactéries contribuent à la formation des poches parodontales par leur action de suppression de l'adhésivité des cellules épithéliales entre elles et de lyse de la substance fondamentale du tissu conjonctif gingival.

5. CONCLUSIONS

1. Le degré d'inflammation gingivale, le débit de fluide gingival, la profondeur des poches et le degré de perte d'os parodontal ont été mesurés au niveau de la région incisive supérieure chez 15 patients. Concernant ces paramètres cliniques, il a été confirmé qu'il existe une corrélation positive et statistiquement significative entre le degré d'inflammation gingivale (mesuré selon l'indice GI) et le débit de fluide gingival (collecté sur papier-filtre selon une méthode standardisée).
2. Une coloration spécifique obtenue par une réaction histochimique a permis de mettre en évidence l'activité de la phosphatase acide dans les cellules épithéliales desquamées de la gencive marginale. Grâce à un microdensitomètre, nous avons pu déterminer le degré d'activité enzymatique au niveau de ces cellules après coloration sur frottis.
3. Il a été démontré une corrélation négative et statistiquement significative entre le taux d'activité phosphatasique et l'indice d'inflammation gingivale. Il semble donc que les cellules épithéliales se détachant des gencives enflammées contiennent moins d'activité phosphatasique que les cellules épithéliales desquamant de gencives saines.
4. Nos résultats semblent confirmer ce que certains auteurs ont appelé "hypothèse lysosomale". En effet, l'enzyme contenu dans les lysosomes semble être libéré lors de la réaction inflammatoire et pourrait alors contribuer aux dommages tissulaires caractérisant la parodontite.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALLISON, A. : Lysosomes and disease.
Scient. Am. 217 : 62-72, 1967.
2. ATTSTROEM, R., TYNELIUS-BRATTHALL, G. et EGELBERG, J. :
Effect of experimental leucopenia on chronic
gingival inflammation in dogs. II. Induction of
leucopenia by heterologous antineutrophil serum.
J. period. Res. 6 : 200-210, 1971.
3. BANG, J., CIMASONI, G. et HELD, A.J. : Beta-glucoronidase
correlated with inflammation in the exudate
from human gingiva.
Arch oral Biol. Vol. 15 : 445-451, 1970.
4. BEAGRIE, G.S. : An autoradiographic study of the gingival
epithelium of mice and monkeys with thymidine
 H^3 .
Dent. Pract. 14 : 18-26, 1963.
5. BJORN, A.L., KOCH, G. et LINDHE, J. : Evaluation of gingival
fluid measurements.
Odont. Revy 16 : 381-398, 1964.
6. BOUTBOUL, F. : Gingivite, parodontite et pH salivaire : obser-
vations chez l'homme.
Parodontologie 25 : 75-82, 1971.
7. BRILL, N : Gingival conditions related to flow of tissue fluid
into gingival pockets.
Acta odont. Scand. 18 : 421-446, 1961.
8. BRILL, N, et BJORN, H. : Passage of tissue fluid into human
gingival pockets.
Acta odont. Scand. 17 : 11-21, 1959.
9. CHAYEN, J., BITENSKY, L., BUTCHER, R.G. et POULTER, L.W. :
A Guide to Practical Histochemistry.
Oliver and Boyd, Edinburgh, 1969.
10. CIMASONI, G. : The crevicular fluid.
Monographs in oral science.
Karger Press. (Sous presse). 1974.
11. DE DUVE, C. : The lysosomes.
Scient. Am. 208 : 64-72, 1963.

12. EGELBERG, J. : Gingival exudate measurements for evaluation of inflammatory changes in the gingivae.
Odont. Revy 15 : 381-398, 1964.
13. EGELBERG, J. : Permeability of the dento-gingival blood vessels.I.- Application of the vascular labelling method and gingival fluid measurements.
J. period. Res.1 : 180-191, 1966.
14. FRANK, R. et CIMASONI, G. : Electron microscopy of acide phosphatase in the exudate from inflamed gingivae.
J. period. Res. 7 : 213-225, 1972.
15. FRANK, R. et CIMASONI, G. : Ultrastructure de l'épithélium cliniquement normal du sillon et de la jonction gingivo-dentaires.
Z. Zellforsch. 109 : 356-379, 1970.
16. GLAVIND, L. et LOE, H. : Errors in the clinical assessment of periodontal destruction.
J. period. Res. 2 : 180-184, 1967.
17. HELD, A.J. et CIMASONI, G. : Les parodontolyses. Physio-pathologie.
Encyclopédie médico-chir. Stomat. 22030 A27, 1969.
18. HELD, A.J. et CHAPUT, A. : Les parodontolyses.
Julien Prélat, Paris. 1959.
19. INNES, P.B. : The nature of the granules within sulcular epithelial cells.
J. period. Res. 8 : 252-262, 1973.
20. ISHIKAWA, I., CIMASONI, G. et AHMAD-ZADEH, C. : Possible role of lysosomal enzymes in the pathogenesis of periodontitis : a study on cathepsin D in human gingival fluid.
Arch. oral biol. 17 : 111-117, 1972.
21. LANGE, D. et SCHROEDER, H.E. : Cytochemistry and ultrastructure of gingival sulcus cells.
Helv. odont. Acta./Suppl.VI : 65-79, 1971.
22. LOE, H. et SILNESS, J. : Periodontal disease in pregnancy.
I.- Prevalence and severity.
Acta. Odont. Scand. 21 : 533-551, 1963.
23. LOE, H. et HOLM-PEDERSEN, P. : Absense and presence of fluid from normal and inflamated gingivae.
Periodontics 3 : 171-177, 1965.

24. MANN, W. : The correlation of gingivitis, pocket depth
 and exudate from the gingival crevice.
 J. periodont. 34 : 379-387, 1963.
25. MARSHALL-DAY, C.D. et SHOURIE, K.L.: A roentgenogra-
 phic survey of periodontal disease in India.
 J. Am. dent. Ass. 39 : 573-588, 1949.
26. PEARSE, A.G.E.: Histochemistry : theoretical and applied.
 Churchill, London, p. 882, 1960.
27. POOLE, D.F.G. et NEWMAN, H.N.: Dental plaque and oral
 health.
 Nature, vol. 234, No 5328; 329-331, 1971.
28. RAMFJORD, S.P.: Indices for prevalence and incidence of
 periodontal disease.
 J. Periodont. 30 : 51-59, 1959.
29. RUEDIN, H.J., OVERDIEK, H.F. et RATEITSCHAK, K.H.:
 Correlation between sulcus fluid rate and
 clinical and histological inflammation of
 the marginal gingiva.
 Helv. odont. Acta 14 : 21-26, 1970.
30. SCHEI, O., WAERHAUG, J., LOVDAL, A. et ARNO, A.:
 Alveolar bone loss as related to oral
 hygiene and age.
 J. Periodont. 30 : 7-16, 1959.
31. SQUIER, C.A. et WATERHOUSE, J.P.: Lysosomes in oral
 epithelium : the ultrastructural localization
 of acid phosphatase and non-specific esterase
 in keratinized oral epithelium in man and rat.
 Arch. oral Biol. 15 : 153-168, 1970.
32. SUEDA, T., CIMASONI, G. et HELD, A.J.: High levels of
 acid phosphatase in human gingival fluid.
 Arch. oral Biol. 12 : 1205-1207, 1967.
33. SUEDA, T. et CIMASONI, G.: The origin of acid phosphatase
 in human gingival fluid.
 Arch. oral Biol. 13 : 553-558, 1968.
34. TAICHMAN, N.S., FREEDMAN, H.L. et URIUHARA, T.:
 Inflammation and tissue injury. I. - The
 response to intradermal injections of human
 dento-gingival plaque in normal and leuko-
 penic rabbits.
 Arch. oral Biol. 11 : 1385-1392, 1966.

35. THILANDER, H.: Permeability of the gingival pocket epithelium.
Int. dent. J. 14 : 416-421, 1964.
36. VALAZZA, A. : Phosphatase acide, bêta-glucuronidase et cathépsine D dans des microquantités de fluide gingival.
Thèse No 289, Ed. Médecine et Hygiène, Genève. 1972.
37. VALAZZA, A., MATTER, J., OGILVIE, A. et CIMASONI, G.:
Fluide gingival, inflammation gingivale, profondeur des poches et perte osseuse.
Rev. dent. suisse Odonto-stomatol. 82 : 824-832, 1972.
38. WILSON, A.G. et McHUGH, W.D.: Gingival exudate-an index of gingivitis ?
Dent. Pract. 21 : 261-266, 1971.
39. WINER, R.A., O'DONNELL, L.J., CHAUNCEY, H.H. et McNAMARA, T.F.: Enzyme activity in periodontal disease.
J. Periodont. 41 : 449-456, 1970.

